

- ⁷ J. LASCELLES ET J. L. STILL, *Australian J. Exptl. Biol. Med.*, 24 (1946) 159.
⁸ M. LEMOIGNE, A. DE SOMER ET M. CROSON, *Bull. soc. chim. biol.*, 33 (1951) 1423.
⁹ S. TANIGUCHI, H. MITSUI, J. TOYODA, T. YAMADA ET F. EGAMI, *J. Biochem. (Japan)*, 40 (1953) 175.
¹⁰ R. KLAUSMEIER ET R. BARD, *J. Bacteriol.*, 68 (1954) 129.
¹¹ G. G. ROUSSOS, H. TAKAHASHI ET A. NASON, *J. Bacteriol.*, 73 (1957) 594.
¹² M. ZUCKER ET A. NASON, *J. Biol. Chem.*, 213 (1955) 463.
¹³ R. SATO ET F. EGAMI, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 22 (1949) 137.
¹⁴ L. VERNON, *J. Biol. Chem.*, 222 (1956) 1035 et 1045.
¹⁵ V. VERHOEVEN ET Y. TAKEDA, *Inorganic Nitrogen Metabolism*, Johns Hopkins Press, Baltimore, 1956, p. 159.
¹⁶ J. C. SENEZ, F. PICHINOTY ET M. KONOVALTSCHIKOFF, *Compt. rend.*, 242 (1956) 570.
¹⁷ J. MILLET, *Compt. rend.*, 238 (1954) 408.
¹⁸ G. BOSCO, *Ann. Igienie Microbiol.*, 6 (1955) 35.
¹⁹ J. C. SENEZ, *Bull. soc. chim. biol.*, 37 (1955) 1135.
²⁰ H. McILWAIN, *J. Gen. Microbiol.*, 2 (1954) 288.
²¹ G. ENDRES ET L. KAUFMANN, *Anal. Chem.*, 18 (1946) 96.
²² E. J. CONWAY, *Microdiffusion Analysis*, Crosby Lockwood, London, 1950.
²³ H. DAVSON ET J. F. DANIELLI, *The Permeability of Natural Membranes*, Cambridge University Press, 1952.
²⁴ P. MITCHELL ET J. MOYLE, *Bacterial Anatomy*, Cambridge University Press, 1956, p. 150.
²⁵ D. LITTLEWOOD ET J. R. POSTGATE, *J. Gen. Microbiol.*, 16 (1957) 596.
²⁶ OSTERHOUT, cité dans ²³, p. 188.
²⁷ H. V. RICKENBERG, G. N. COHEN, G. BUTTIN ET J. MONOD, *Ann. Inst. Pasteur*, 91 (1956) 829.
²⁸ C. MICHAËLIS ET E. S. HILL, *J. Gen. Physiol.*, 16 (1933) 859.
²⁹ S. YAMAGATA, *Acta Phytochim. (Japan)*, 11 (1939) 145.
³⁰ K. G. PAUL, EN J. B. SUMNER ET K. MYRBÄCK, *The Enzymes*, Vol. II, Part 1, Academic Press, Inc., New York, 1951, p. 378.
³¹ N. SUZUKI ET S. SUZUKI, *Science Repts. Tōhoku Univ., Fourth Ser.*, 20 (1954) 195.

Reçu le 23 septembre 1957

CRÉATINE, PHOSPHOCRÉATINE ET ADÉNOSINETRIPHOSPHATE DANS L'UTÉRUS DE RAT

INFLUENCE DE QUELQUES HORMONES ET DE LA CONGÉLATION SUR CES FRACTIONS

DANIÈLE GAUTHERON* ET G. V. R. BORN

Nuffield Institute, Oxford (England)

Dans de précédents travaux¹, il a été montré que des injections d'oestradiol et de progestérone provoquent chez le rat impubère une augmentation considérable des phosphates labiles de l'utérus, mesurés à la fois par la méthode de LOWRY ET LOPEZ² et après hydrolyse acide de l'extrait, à 100°, dans HCl N, pendant 7 minutes (phosphate 7 minutes). D'autre part, l'adrénaline, injectée 45–50 minutes avant décapitation de l'animal, diminue notablement la teneur de l'utérus en phosphates labiles chez le jeune rat pubère³. Les méthodes utilisées au cours de ces travaux ne

* Fellow of the British Council. Adresse actuelle: Laboratoire de Chimie biologique de la Faculté des Sciences, 96, Bd. Raspail, Paris 6ème, France.

permettant pas de préciser la nature des esters phosphorylés riches en énergie mis en jeu, il était intéressant d'étudier d'une façon plus spécifique certains de ces esters. Le présent travail est une étude préliminaire des variations de la créatine libre, de la phosphocréatine et de l'adénosinetriphosphate dans l'utérus de rat sous l'influence de ces différentes hormones.

De plus, il a été observé, au cours du présent travail, que la congélation de l'utérus dans l'azote ou l'air liquide, telle qu'elle avait été pratiquée précédemment^{1,3}, a une forte influence sur la teneur de l'utérus en esters phosphorylés labiles sans cependant modifier le sens des effets hormonaux observés.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Les rats utilisés sont de souche Wistar. Ils sont tués par décapitation rapide et les utérus disséqués comme précédemment³. L'utérus est soit congelé dans l'air ou l'azote liquide, soit conservé quelques minutes à 0° sans être congelé. L'homogénéisation est faite en présence d'acide trichloracétique à 5%, à 0°, et le broyat est centrifugé et utilisé comme précédemment³.

La créatine et la phosphocréatine sont dosées respectivement par les méthodes de ENNOR ET STOCKEN⁴ et de ENNOR ET ROSENBERG⁵.

L'adénosinetriphosphate est dosé dans l'extrait après extraction, par l'éther à 0°, de l'acide trichloracétique. La méthode employée est celle décrite par STREHLER ET TOTTER⁶ et adaptée par BORN et coll.⁷; elle est basée sur l'existence d'une relation linéaire entre la luminescence produite après addition d'adénosinetriphosphate à un extrait d'organes lumineux de "Photinus Pyralis" et la quantité d'adénosinetriphosphate ajoutée.

Les injections d'oestradiol (2 fois 10 µg de benzoate d'oestradiol), d'oestradiol + progestérone (2 fois 10 µg de benzoate d'oestradiol + 100 µg de progestérone) et d'adrénaline (91.5 µg par 100 g de poids d'animal) sont pratiquées comme précédemment^{1,3}.

RÉSULTATS

Les résultats obtenus sont présentés dans les Tableaux I et II. Ils sont exprimés en µg de substance par 100 mg de poids frais d'utérus, ± l'erreur standard sur la moyenne. Le facteur de probabilité P est calculé d'après la formule de Student.

Ces résultats permettent de tirer les conclusions suivantes:

(1) L'adénosinetriphosphate et la phosphocréatine ne forment qu'une partie des esters phosphorylés riches en énergie de l'utérus, mesurés par les méthodes d'hydrolyse acide (phosphate 7 minutes) et de LOWRY ET LOPEZ (esters très labiles)^{1,3}.

(2) Chez les rats impubères, le traitement par l'oestradiol, ou par l'oestradiol et la progestérone injectées simultanément, fait augmenter de façon significative la teneur en adénosinetriphosphate du muscle utérin, que l'utérus soit congelé ou non dans l'air liquide. Ces résultats concordent avec l'augmentation globale des esters phosphorylés labiles observée précédemment sous l'influence de ces hormones¹.

(3) Les injections d'adrénaline provoquent une diminution importante et significative de la teneur en phosphocréatine et adénosinetriphosphate de l'utérus de jeunes rats pubères. Ces résultats concordent également avec la diminution globale des esters phosphorylés labiles observée précédemment sous l'influence de cette hormone³.

(4) La congélation de l'utérus dans l'air liquide provoque, dans tous les cas, une diminution de la teneur en phosphocréatine et en adénosinetriphosphate. Cette diminution est particulièrement marquée dans le cas des rats impubères non traités. Ce fait explique que, lorsque les utérus sont congelés, on observe une différence plus marquée entre les teneurs en adénosinetriphosphate de l'utérus des rats impubères non traités, ou traités soit par l'oestradiol seul, soit par l'oestradiol et la progestérone

TABLE I

simultanément. Cette différence cependant reste toujours significative, que les utérus soient congelés ou non.

Il paraît difficile d'expliquer l'action de la congélation sur la teneur de l'utérus en adénosinetriphosphate. Certains auteurs pensent qu'un muscle mis en contact avec l'air ou l'azote liquide peut se contracter brusquement⁸, ce qui pourrait expliquer la diminution de l'adénosinetriphosphate observée. Cependant, la contractibilité d'un utérus après traitement de l'animal par l'oestradiol, est beaucoup plus forte que celle d'un organe impubère, qui contient beaucoup moins d'actomyosine⁹. Si la perte d'adénosinetriphosphate s'expliquait par une contraction brutale du muscle au contact du froid, cette perte devrait être beaucoup plus marquée chez l'animal traité à l'oestradiol que chez l'animal impubère non traité. Il ne nous paraît donc pas possible de donner une explication valable de ce phénomène à l'heure actuelle.

RÉSUMÉ

Les teneurs de l'utérus en créatine, phosphocréatine et adénosinetriphosphate ont été déterminées chez le rat impubère, le jeune rat pubère et le rat adulte. Chez les rats impubères, le traitement par l'oestradiol seul ou par l'oestradiol et la progestérone injectés simultanément fait augmenter de façon significative la teneur en ATP du muscle utérin. Chez les jeunes rats pubères, les injections d'adrénaline provoquent une diminution très marquée de la teneur en phosphocréatine et ATP de l'utérus.

De plus, il a été observé que la congélation de l'utérus dans l'azote ou l'air liquide diminue la teneur de l'utérus en phosphocréatine et ATP, sans toutefois modifier le sens des effets hormonaux observés.

SUMMARY

Creatine, phosphocreatine and ATP were determined in the uterus of immature rats, young mature rats and adult rats. Injections of oestradiol or oestradiol + progesterone simultaneously, were found to increase significantly the ATP content of the uterus of the immature rats. Adrenaline injections were found to decrease greatly the phosphocreatine and ATP contents of the uterus of young mature rats.

If the uterus is frozen in liquid air or nitrogen instead of being kept at 0°, its phosphocreatine and ATP contents decrease. However, this fact does not modify the observed hormonal effects.

BIBLIOGRAPHIE

- ¹ P. VOLFIN, H. CLAUSER ET D. GAUTHERON, *Biochim. Biophys. Acta*, 24 (1957) 137.
- ² O. H. LOWRY ET J. A. LOPEZ, *J. Biol. Chem.*, 162 (1946) 421.
- ³ D. GAUTHERON, H. CLAUSER ET P. VOLFIN, *Biochim. Biophys. Acta*, 24 (1957) 133.
- ⁴ A. H. ENNOR ET L. A. STOCKEN, *Biochem. J.*, 42 (1948) 557.
- ⁵ A. H. ENNOR ET H. ROSENBERG, *Biochem. J.*, 51 (1952) 606.
- ⁶ B. L. STREHLER ET J. R. TOTTER, dans D. GLICK, *Methods of Analysis*, Vol. I, Interscience Publishers, Ltd., London, 1954, p. 341.
- ⁷ G. V. R. BORN ET E. BÜLBRING, *J. Physiol.*, 127 (1955) 626.
- ⁸ W. W. UMBREIT ET B. ILLINGWORTH, *Manometric Techniques and Tissue Metabolism*, Burgess Publishing Co., Minneapolis, 1951, p. 186.
- ⁹ A. CSAPO, *Am. J. Physiol.*, 162 (1950) 406.

Reçu le 22 septembre 1957